

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
**Image Problem Mailbox.**

⑨日本国特許庁(JP)

⑪特許出願公開

⑫公開特許公報(A)

昭54-46836

⑬Int. Cl. <sup>2</sup>	識別記号	⑭日本分類	⑮内整理番号	⑯公開 昭和54年(1979)4月13日
A 61 K 31/43	ADZ	30 G 133.231	6667-4C	
A 61 K 31/505//	ADZ	30 G 133.42	6617-4C	発明の数 1
C 07 D 499/68		30 G 181.3	6365-4C	審査請求 未請求
(A 61 K 31/43		30 H 612	6617-4C	
A 61 K 31/73)		16 E 61	6617-4C	(全 5 頁)
(A 61 K 31/505			6617-4C	
A 61 K 31/73)				

⑭抗菌性組成物

⑮特 願 昭52-114021  
⑯出 願 昭52(1977)9月22日  
⑰發明者 石丸寿保  
同 吹田市桃山台2-7, D-14  
同 畑村真理子  
同 大阪市東淀川区瑞光通4-34  
同 新田孟

吹田市泉町5-23-2 東和荘

⑱發明者 畠中稔  
高槻市天神町2-11-25  
⑲出願人 財團法人産業科学研究所  
大阪市東区内本町橋詰町58-7  
大阪商工会議所ビル大阪工業  
会内  
⑳代理人 弁理士 野河信太郎

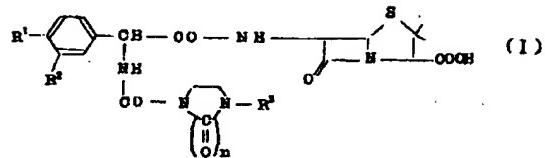
明細書

1. 発明の名称

抗菌性組成物

2. 特許請求の範囲

1. 式(I) :



(式中 R<sup>1</sup>は水素原子、ヒドロキシ基、低級アルコキシカルボニルオキシ基またはアシロキシ基、R<sup>2</sup>は水素原子、ヘロゲン原子またはニトロ基、R<sup>3</sup>は低級アルキル基、nは1または2を表わす。) を有するD(-)ペニシリノ系化合物またはその医薬的に受容性塩とアミノグリコシド系抗生物質またはその医薬的に受容性塩を含むことよりなる抗菌性組成物。

2. 式(I)のペニシリノ系化合物またはその塩とアミノグリコシド系抗生物質またはその塩との重量比が200:1~1:2である特許請求の範囲第1項記載の組成物。

3. アミノグリコシド系抗生物質がカナマイシン、デオキシカナマイシンB、アミカシン、トブラマイシン、ネブラマイシン、ムタミシン、ペルドミシン、シソミシン、セルドマイシン、デストマイシン、ジヒドロスペクチノマイシン、カネンドマイシンまたはゲンタマイシンである特許請求の範囲第1項または第2項記載の組成物。

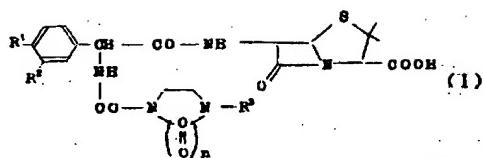
4. 注射投与用に調整された特許請求の範囲第1項  
～第3項記載の組成物。

6号印

3. 発明の詳細な説明

この発明は、新規な抗菌性組成物に関する。より詳しくは、この発明は式(I)：

特開昭54-46836(2)



(式中 R<sup>1</sup> は水素原子、ヒドロキシ基、低級アルコキシカルボニルオキシ基またはアシロキシ基、 R<sup>2</sup> は水素原子、ハロゲン原子またはニトロ基、 R<sup>3</sup> は低級アルキル基、 n は 1 または 2 を表わす。) を有する D(-) ベニシリリン系化合物またはその医療的に受容を塩とアミノグリコシド系抗生物質またはその医療的に受容を塩を含むことよりなる抗菌性組成物を提供するものである。

いわゆるアミノグリコシド系抗生物質は、細胞膜を含むグラム陰性菌やグラム陽性菌に対し、広域抗菌スペクトルを示し、且つ殺菌的に作用することが公知である。しかし難感や耐性等の副作用を示すことが知られ、より少ない量の使用で所望の効果が得せられれば好ましいわけである。

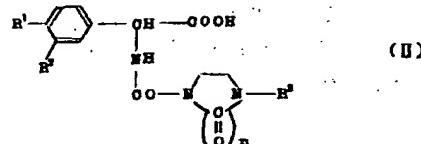
一方、式(I)で表わされるベニシリリン系化合物中、

例えば D(-)-α-(4-エチル-2,3-ジオキソビペラジン-1-カルボニルアミノ)フェニルアセタミドベニシリラン酸は、細胞膜を含む広域抗菌活性を持つが、その作用は例えば大腸菌に対しては菌数の少いところでは殺菌的に働くが菌数が多いと静菌的であることが知られている(日本細胞学雑誌第32巻(1), 第291頁(1977年))。

この発明の発明者は、これらのこと考慮して、種々検討をした結果、式(I)のベニシリリン系化合物(ことに D(-) 体)とアミノグリコシド系抗生物質との間に強力な相乗効果のあることを見出し、この発明をなすに至つた。

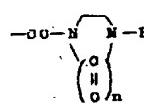
この発明に使用される式(I)のベニシリリン系化合物は、その一部を除き新規物質である。

これらは、例えば 6-アミノベニシリラン酸に式(II)：



(式中 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> は式(I)で定義したと同一) を有するカルボン酸の反応性誘導体を常法によつて反応させればよい。

式(II)の化合物は直換フェニルグリシンのアミノ基に常法により基



を導入して作る

ことができる。

なお、式(I)で R<sup>1</sup> が低級アルコキシカルボニルオキシ基およびアシロキシ基の化合物は、式(I)で R<sup>1</sup> がヒドロキシ基の化合物を一旦生成してから作ることができる。式(II)のカルボン酸として D(-) 体を用いれば、前述の D(-) 体のベニシリリン系化合物が得られる。

式(I)における用語“低級アルコキシカルボニル基”的低級とは炭素数 1 ~ 4 個を意味する。

“アシロキシ基”的好ましい例は、アセトキシ基、プロピオニルオキシ基のような低級脂肪族アシロキシ基、ビソイ化オキシ基などの芳香族アシロキシ基などである。ハロゲン原子の好ましい例は

クロル原子である。

アミノグリコシド系抗生物質としては、カナマイシン、デオキシカナマイシン B、ムタミシン、アミカシン、トブライマイシン、ネブライマイシン、ペルドミシン、シソミシン、セルドマイシン、デストマイシン、ジヒドロスペクチノマイシン、カネンドマイシン、ゲンタマイシンなど、並びにこれらの類似物質が挙げられる。

アミノグリコシド系抗生物質および式(I)のベニシリリン系化合物の医療的に受容を塩は、それぞれの技術分野で公知のものが含まれる。

またアミノグリコシド系抗生物質と式(I)のベニシリリン系化合物は、一般に 4 : 1, 3 : 1, 2 : 1 および / または 1 : 1 の各モル比で塩を形成するので、この塩をこの発明の組成物として用いてもよい。

例えばデオキシカナマイシン B (DKB- $\times$ B<sub>2</sub>S O<sub>4</sub>) を少量の含水メタノールに溶かし、4 倍モルの炭酸水素ナトリウムを加え煮沸乾燥し、残渣をメタノールで処理し、碳酸ナトリウムを完全に除く、メタノール溶液は約 1/10 容に濃縮し、6-[D(-)-α-

(4-エチル-2,3-ジオキソ-1-ビペラジノカルボニルアミノ)-p-ヒドロキシ-フェニルアセタミド) ベニシラン酸4倍モルを加え、少量の含水メタノールを加え溶解させる。再び減圧濃縮し不溶物があれば沪過し、滤液は凍結乾燥するかまたアセトン+酢酸エチルで処理すると塩が得られる。この塩はアモルファスの固体で吸湿性であり、融点(分解点)は明確でない。

この発明に使用される有効成分は、一般に非経口投与に適しており、既つてこの発明の組成物は非経口投与用に調整するのが一般に好ましい。非経口投与用の担体としては、当該分野で公知のものが利用される。例えばリンゲル液の如きものを用いてよい。

式(I)のベニシリン系化合物とアミノグリコシド系抗生物質の配合割合(重量比)は、例えば200:1～1:2、より普通には100:1～1:1であつてもよく、50:1～30:1が有利であろう。通常成人1日当たり、この発明の組成物の20mg～6000mg、よ

り普通には100mg～3000mgが投与されるであろう。しかし、全身感染や強固な微生物による感染症にはより高用量用いてよい。

次にこの発明に使用されるベニシリン系化合物で代表的な化合物の融点を表1に示す(但し、表中R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>は式(I)における置換基を意味し、いずれもD(-)体である。)

(以下余白)

表 1

化合物	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	n	融点℃(分解)
1 HO	H	O <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1	160～163	
2 OH <sub>2</sub> COO-O	H	#	1	96～98	
3 HO	O <sub>2</sub>	#	1	148～152	
4 OH <sub>2</sub> COO-O	O <sub>2</sub>	#	1	90～92	
5 O <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COO-O	O <sub>2</sub>	#	1	95～97	
6 HO	H	#	2	ナトリウム塩 179～184	
7 O <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COO-O	H	#	2	ナトリウム塩 151～157	
8 n-O <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COO-O	H	#	2	ナトリウム塩 159～165	
9 n-O <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COO-O	H	#	2	ナトリウム塩 160～166	
10 iso-O <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COO-O	H	#	2	ナトリウム塩 162～167	
11 HO	O <sub>2</sub>	#	2	78～83	
12 H	H	#	2	ナトリウム塩 205	

次に参考例を挙げてこの発明に使用される代表的な化合物の製造法を示す。

#### 参考例

6-[D-(-)-α-(4-エチル-2,3-ジオキソ-1-ビペラジノカルボニルアミノ)-p-(エトキシカルボニルオキシ)フェニルアセタミド]ベニシラン酸およびナトリウム塩(表1のNo.7の化合物)の製法。

(1) D-(-)-α-(4-エチル-2,3-ジオキソ-1-ビペラジノカルボニルアミノ)-p-(エトキシカルボニルオキシ)フェニル酢酸1.22gを無水塩化メチレン10mlに溶解し、冰冷下N-メチルモルホリン0.31gを加える。この溶液を-20℃に冷却し、攪拌下クロル炭酸エチル0.345gを滴下し、-15～-10℃で約1.5時間反応させる。その後-30℃に冷却し、6-アミノベニシラン酸のトリエチルアミン塩の0.95gを含む無水塩化メチレン10mlの溶液を滴下する。-20℃で1時間、-5℃で1時間反応させたのち、冷水を加え水層を分取し希硫酸でpH2.5として酢酸エチルで抽出し乾燥後、溶媒を留去する。イソプロピルエーテルで処理し、

標記ベニシリソの固体を得た〔mp 159 (83%)〕。得られたベニシリソを、法によりナトリウム塩に導いた〔mp 151~157 °C (分解)〕。

(2) アモキシシリソ 3.65 g を氷冷下 50% 含水アセトン中で pH 9~9.5 に保ち、攪拌しながら 4-エチル-2,3-ジオキソ-1-ビペラジノカルボニルクロライドのテトラヒドロフラン溶液をゆっくり滴下する。滴下終了後 30 分間攪拌し、希塩酸で pH 2 として酢酸エチルで抽出する。有機層は乾燥後減圧で溶媒を留去する〔45g (86%)〕。この生成物 6-[D-(-)- $\alpha$ -(4-エチル-2,3-ジオキソ-1-ビペラジノカルボニルアミノ)- $\alpha$ -ヒドロキシフェニルアセタミド]ベニシリソ酸を常法によりナトリウム塩とした〔mp 179~184 °C (分解)〕。

このナトリウム塩 2 g を 50% 含水アセトン 20 mL に懸滴し、氷冷下攪拌しながらクロロ炭酸エチルを滴下する。反応中は pH 9.5 付近に調整するように炭酸水素ナトリウム水溶液を加える。その後酢酸エチルを加え希塩酸で pH 2.5 に調整し酢酸エチルで抽出

て静置培養した。菌の発育の有無を肉眼的に判定し、それぞれの併用薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。また A 11 の化合物と DKB との組み合せのものについては最終菌濃度を  $10^6$  cell/mL としたものに関するも同様の試験を行つた。以上の試験の結果を第 1a~3b 図に示す。これらの図においては横軸にこの発明に用いられるベニシリソ系化合物 A 7, A 11, A 12 の各々の濃度を、縦軸に DKB あるいは AMK 濃度をとり、その併用薬剤の MIC をプロットして各点を連結して曲線とした。

この図においては曲線と横軸と縦軸に囲まれた領域が菌の発育を阻止しない併用薬剤の配合濃度を示す領域であり、この領域を除いた領域における配合濃度で菌の発育を阻止できることを表わしている。即ちこのプロットが、各々の薬剤の単独使用の場合に得られる 2 つの点を結ぶ直線と横軸と縦軸に囲まれた領域の内側・外側あるいは直線上のどの位置にのるかによって両薬剤の併用の場合の効果が別れ、内側に凹んだ曲線が得られる場合

する。有機層は乾燥後減圧で溶媒を留去したのちエーテルで処理し、標記ベニシリソの固体を得た〔mp 159 (82%)〕。これを常法によりナトリウム塩に導いた〔mp 151~157 °C (分解)〕。

次に試験例を挙げてこの発明を説明する。

#### 試験例

当社として ATCC 17653 株から購入されたシードモナス・エルギノーサ KM338 (この菌に対するベニシリソ A 並びにカルベニシリソの MIC は各々  $30,000 \mu\text{g}/\text{mL}$  並びに  $125 \mu\text{g}/\text{mL}$  である) を用いた。

ミクロタイマー (microtiter) 用プレートを使用して、A 1 の A 7, A 11 並びに A 12 の化合物の何れかとデオキシカナマイシン B (DKB) 並びに AMK の何れかを組み合わせ、各種濃度の薬剤を含むトリプチカーゼ・ソイ・プロス (Trypticase soy broth)  $50\text{mL}$  に、18 時間培養した後検出約  $2 \times 10^6$  cell/mL の菌液を  $50\text{mL}$  加え (最終菌濃度  $10^6$  cell/mL)、24 時間  $37^\circ\text{C}$

には相乗作用があり、外側にふくらんだ曲線の場合には拮抗作用があり、直線上にのる場合には相加作用があることを示すものである。

第 1a~3b 図よりこの発明に係る上記化合物とアミノグリコシド系抗生物質である DKB とは優れた相乗作用を示すことが理解される。なお、第 2a 図における 2 つの曲線のうち上側の曲線が菌濃度  $10^6$  cell/mL の場合、下側の曲線が菌濃度  $10^6$  cell/mL の場合の試験結果を示すものである。

なお、試験例で用いた A 11 の化合物と、ポリミキシン B, カルベニシリソとの併用薬剤に関する MIC を試験例と同様の方法で測定した。その結果 A 11 の化合物はポリミキシン B との併用において拮抗作用を示し、カルベニシリソとの併用において相加作用を示したのみであつた。

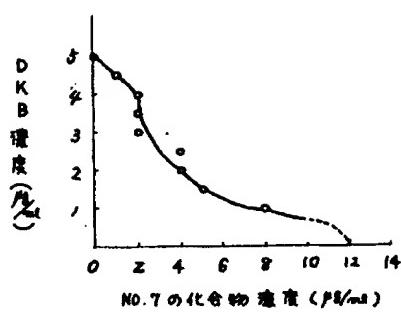
#### 4. 図面の簡単な説明

第 1a~第 3b 図は本発明の代表的な化合物である A 7, A 11, 並びに A 12 の化合物の何れかと

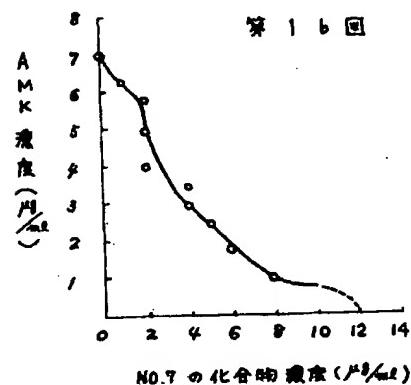
第1a図

アミノグリコシド系抗生物質であるDKBあるいはAMKとのシユードモナス菌に対する相乗作用を示すグラフである。

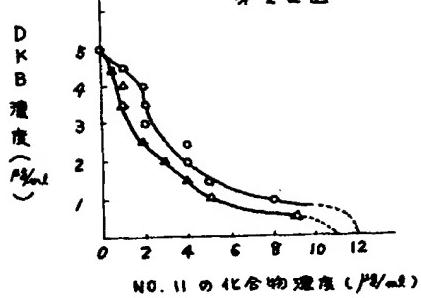
代理人弁理士野河信太郎



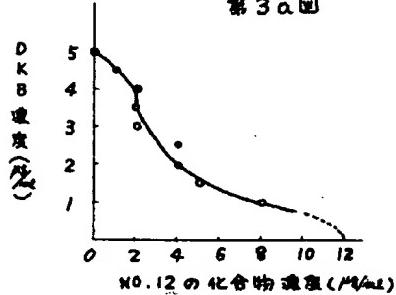
第1b図



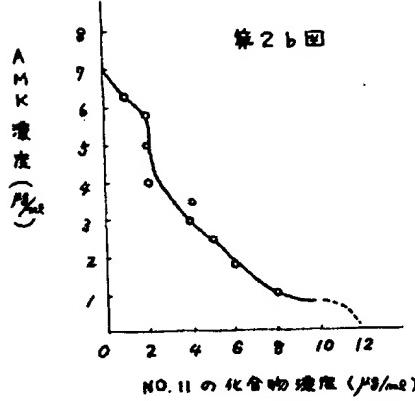
第2a図



第3a図



第2b図



第3b図

